



Departamento de
Química Orgánica
Universidad Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Preparación de copolímeros bloque y nanopartículas poliméricas en agua para su aplicación en liberación controlada de fármacos

Trabajo Fin de Grado (TFG)
GRADO EN QUÍMICA

Grupo Cristales Líquidos y Polímeros
Dpto. Química Orgánica
Universidad de Zaragoza
Curso 2014/2015

Miriam Abad Andrés

Directores: Dr. Luis T. Oriol Langa
Dra. Milagros Piñol Lacambra



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



**Universidad
Zaragoza**

RESUMEN: “PREPARACIÓN DE COPOLÍMEROS BLOQUE Y NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS EN AGUA PARA SU APLICACIÓN EN LA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS”

Los copolímeros bloque anfífilos tienen capacidad de autoensamblaje para formar estructuras de tipo micelar, que pueden utilizarse como transportadoras de sustancias encapsuladas en su interior. Si los copolímeros empleados son sensibles a estímulos, puede controlarse la liberación de dichas sustancias. Uno de los estímulos más destacados es la luz, y los polímeros fotosensibles presentan grupos funcionales capaces de isomerizar o reaccionar al ser irradiados a una determinada longitud de onda. Uno de los grupos más estudiados en este campo es el azobenceno debido a su fotoisomerización reversible *trans-cis-trans*. Este grupo se puede unir a los polímeros de forma covalente, que es el caso más frecuente, o utilizando los principios de la Química Supramolecular, alternativa mucho menos explorada y más versátil. Los objetivos de este trabajo han sido:

- Síntesis y caracterización de copolímeros supramoleculares anfífilos que contienen unidades de 2,6-diacilaminopiridina (DAP), capaces de unirse vía enlaces de hidrógeno con azocompuestos que poseen grupos timina terminales, y unidades derivadas de metacrilato de 3,6-dioxiheptanoilo (DEGMA).
- Estudio del autoensamblaje en agua de los copolímeros bloque anfífilos.

De acuerdo a estos objetivos, se han preparado copolímeros estadísticos con las unidades DAP y DEGMA, como referencia para determinar sus propiedades y comprobar que ambos monómeros poseen una reactividad similar, y copolímeros bloque anfífilos con un bloque hidrófobo con composición idéntica a la de los copolímeros estadísticos y un bloque hidrófilo de poli(etilenglicol). Todos estos copolímeros fueron sintetizados por polimerización controlada RAFT. Los derivados de timina que contienen el azocompuesto se unen mediante un triple enlace a las unidades de 2,6-diacilaminopiridina de los copolímeros bloque para dar los copolímeros bloque supramoleculares anfífilos. Todos los copolímeros fueron caracterizados por técnicas espectroscópicas y estudiadas sus propiedades térmicas.

Se ha conseguido formar nanopartículas poliméricas a partir de los copolímeros bloque, pero no a partir de los copolímeros supramoleculares.

ABSTRACT: “PREPARATION OF BLOCK COPOLYMERS AND WATER-DISPERSED POLYMERIC NANOPARTICLES APPLICATION IN DRUG DELIVERY”

Amphiphilic block copolymers are able to self-assemble and form polymeric nanoparticles to encapsulate hydrophobic molecules. When using stimuli responsive polymers, the encapsulated molecules can be controlled release. Light is one of the most investigated stimuli because it can be remotely and locally applied. Photoresponsive polymers are composed by moieties that react or isomerize when they are irradiated with light of a particular wavelength. Azobenzene is one of these functional molecules whose light activity is due to its reversible photoisomerization *trans-cis-trans*. Azobenzene can be covalently bind to the polymer, which is most frequent situation, or can be bind to it using the principles of Supramolecular Chemistry, which constitutes a far less explored approach. The aims of this project were:

- The synthesis and characterization of amphiphilic supramolecular block copolymers containing units of 2,6-diacylaminopyridine (DAP) capable of binding, via hydrogen bonds, azobenzenes having thymine terminal groups, and units from di(ethylene glycol) methyl ether methacrylate (DEGMA).
- Study of self-assembly of amphiphilic supramolecular block copolymers in aqueous solutions.

According to these objectives, statistical copolymers containing DAP and DEGMA units were first synthesized by controlled RAFT polymerization, to check the reactivity of the monomers and the properties of the statistical copolymers. Amphiphilic block copolymers containing DAP and DEGMA units (hydrophobic block) and poly (ethylene glycol) (hydrophilic block) were also synthesized by controlled RAFT polymerization. Azobenzenes having thymine terminal groups are linked through a triple hydrogen bond to the 2,6-diacylaminopyridine units to give amphiphilic supramolecular block copolymers. All copolymers were characterized by spectroscopic techniques and their thermal properties were also studied.

Polymeric nanoparticles useful to encapsulate hydrophobic molecules were obtained from block copolymers, but not from supramolecular copolymers.

Índice

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Polímeros y copolímeros. Copolímeros bloque	1
1.2.- Polímeros supramoleculares.	4
1.3.- Polímeros con respuesta a estímulos	5
1.4.- Antecedentes de copolímeros supramoleculares con azobenceno	7
2.- OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	8
2.1.- Preparación y caracterización de los copolímeros estadísticos de PDAP- <i>st</i> -PDEGMA	8
2.2.- Preparación y caracterización de los copolímeros bloque de PEG ₁₀₀₀₀ -b-(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA)	9
2.3.- Preparación y caracterización de los copolímeros supramoleculares	10
2.4.- Preparación y caracterización de micelas o vesículas poliméricas	10
3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
3.1.- Síntesis y caracterización de copolímeros estadísticos	11
3.2.- Síntesis y caracterización de copolímeros bloque	14
3.3.- Estudio de autoensamblados en agua	16
3.4.- Modificación supramolecular con azobenceno	19
4.- PARTE EXPERIMENTAL	22
4.1.- Síntesis y caracterización de los copolímeros de PDAP- <i>st</i> -PDEGMA y de los copolímeros de PEG ₁₀₀₀₀ -b-(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA)	22
4.2.- Preparación de autoensamblados en agua.	23
4.3.- Preparación de los copolímeros supramoleculares.	24
5.- CONCLUSIONES.....	25
ANEXOS	
A.- Espectros (FTIR, ¹ H-RMN)	A-1
B.- Cromatografía de permeación en gel (GPC)	A-8
C.- Estudio enlaces de hidrógeno (FTIR, 1H-RMN)	A-12
D.- Termogravimetría (TGA)	A-15
E.- Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	A-20
F.- Técnicas e instrumentos	A-25

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Polímeros y copolímeros. Copolímeros bloque

Los polímeros son macromoléculas con simplicidad estructural cuya estructura química está formada por unidades menores que se repiten y que derivan del reactivo o monómero empleado en su síntesis (reacción de polimerización). Podemos ver un ejemplo en la *Figura 1.1*.

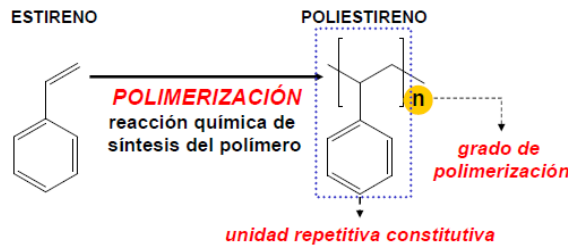


Fig.1.1. Ejemplo de una reacción de polimerización.

Los polímeros pueden clasificarse según su origen o según su estructura. Según su origen pueden clasificarse en:

- Naturales (biopolímeros): En general se consideran polímeros naturales aquellos cuyos monómeros sean de origen natural, y forman parte de los seres vivos, como proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, caucho natural, etc.
- Sintéticos: preparados mediante reacciones de polimerización a partir de monómeros sintetizados por el hombre, como por ejemplo Nylon, polietileno, polipropileno...
- Semisintéticos: polímeros naturales modificados como el acetato de celulosa o el caucho vulcanizado.

Según su estructura, podemos diferenciar entre los siguientes tipos de polímeros:

- Polímeros lineales: las unidades monoméricas se unen unas a otras formando cadenas sencillas unidimensionales que suelen ser flexibles y pueden unirse entre sí por fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, etc. (P. ej. polietileno o poliestireno).

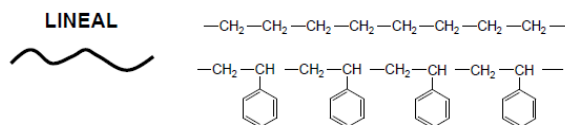


Fig 1.2. Estructura de polímeros de tipo lineal.

- Polímeros lineales ramificados: es una variante de la estructura lineal en la cual la cadena principal está conectada a otras cadenas secundarias. (P. ej. polietileno de baja densidad).

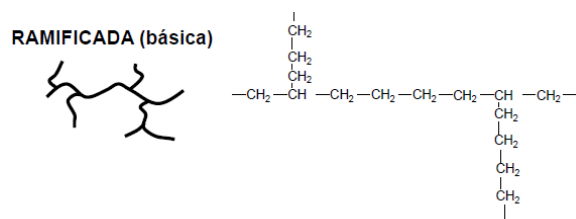


Fig. 1.3. Estructura de un polímero lineal ramificado.

- Polímeros entrecruzados: las cadenas poliméricas se encuentran unidas entre sí por uniones covalentes, formando una única macromolécula. A su vez, los podemos diferenciar según su alta o baja densidad de entrecruzamiento (P. ej. resinas epoxi o caucho vulcanizado).

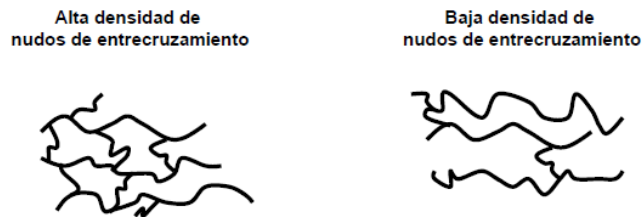


Fig.1.4. Estructura de polímeros entrecruzados.

- Polímeros con nuevas estructuras: en los últimos años se ha investigado en polímeros con nuevas estructuras entre los que destacan los polímeros hiperramificados y dendrímeros.



Fig.1.5. Estructura de polímeros hiperramificados.

Además de las clasificaciones vistas, podemos hacer otra clasificación diferenciando entre homopolímeros y copolímeros. Se consideran homopolímeros a los polímeros que solo tienen un tipo de unidad repetitiva y copolímeros a los que están formados por varias unidades repetitivas diferentes.

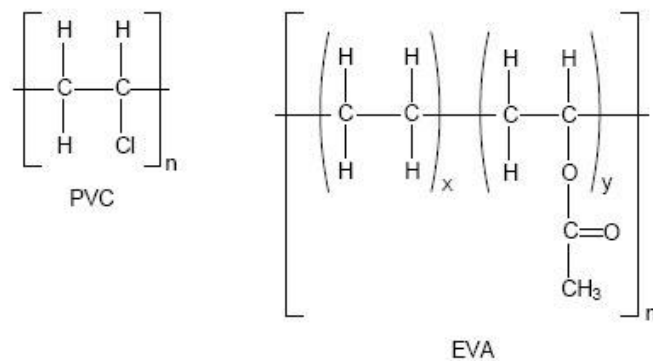


Fig.1.6. Estructura de un homopolímero (PVC) y un copolímero (EVA).

Existen diferentes tipos de copolímeros en función de cómo se distribuyen las unidades repetitivas en la cadena (Figura 1.7): estadística o al azar, alternante, bloque y de injerto.

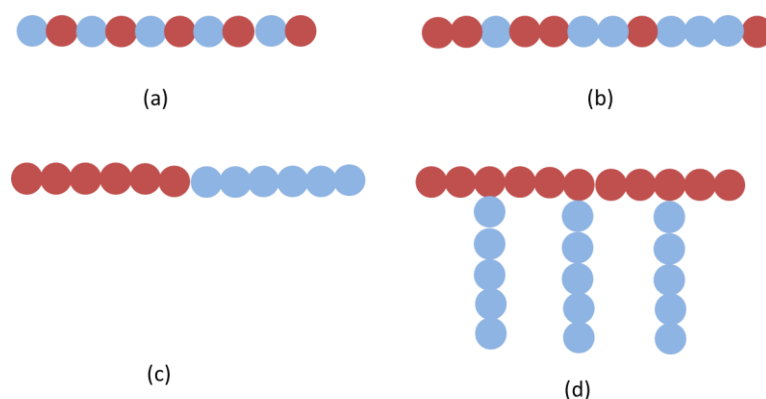


Fig.1.7. Esquema de diferentes tipos de copolímeros: a) alternante, b) estadístico o al azar, c) bloque y d) de injerto.

Por sus aplicaciones en nanotecnología, uno de los tipos más estudiados en los últimos años son los copolímeros bloque, que consisten en la unión de dos o más bloques de polímeros diferentes en la misma cadena. Si uno de estos bloques es hidrófobo y otro hidrófilo (copolímero bloque anfílico), el copolímero tendrá capacidad de autoensamblaje para formar estructuras de tipo micelar, ya que tienden a evitar las interacciones desfavorables con el medio que las rodea, al tiempo que se maximizan interacciones favorables. Por tanto, cuando se introduce en agua un copolímero bloque anfílico sus partes hidrófobas tienden a interactuar entre sí para minimizar el contacto con el agua, desfavorecido desde el punto de vista entálpico, mientras que las hidrófilas quedan solvatadas por moléculas de agua, formándose diversos tipos de micelas o vesículas. Las micelas poliméricas consisten en un núcleo formado por la parte hidrófoba y una corona formada por la parte hidrófila. Si se consigue encapsular en el núcleo moléculas hidrófobas (p. ej. medicamentos), las micelas pueden usarse como transportadoras de sustancias con concentraciones que pueden superar su valor de solubilidad en agua. Por otra parte, las vesículas poliméricas contienen un volumen interno delimitado por una membrana con estructura bicapa. Las vesículas tienen particular interés por su interior hidrófilo y su robusta membrana hidrófoba lo que le permite encapsular tanto moléculas hidrófobas (dentro de la membrana) como hidrófilas (en el interior), tal y como se muestra esquemáticamente en la *Figura 1.8*. El tamaño y la forma de estos autoensamblados pueden ser modulados controlando la relación hidrófobo/hidrófilo del copolímero bloque.

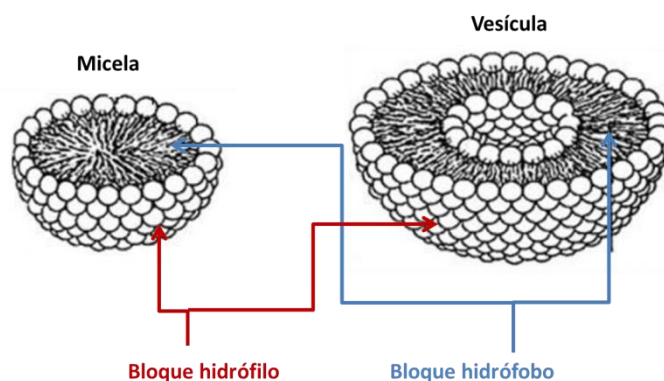


Fig.1.8. Ensamblados en forma de micelas y vesículas a partir de moléculas anfífilas.

La preparación de copolímeros bloque supone el uso de métodos de polimerización diferentes a los convencionales, puesto que se requiere un control preciso de la estructura. Para

sintetizar copolímeros bloque se solía recurrir a la polimerización aniónica a pesar de que requiere condiciones muy estrictas de reacción (baja temperatura, disolventes de muy alta pureza, atmósfera inerte, etc.) y limita el uso directo de monómeros hidrófilos. El desarrollo a finales del siglo pasado de nuevos métodos de polimerización radicalaria controlada ha incrementado notablemente las macromoléculas que pueden prepararse de forma sencilla con un alto grado de control estructural.¹ La clave de estas metodologías suele residir en impedir (o minimizar lo máximo posible) la reacción de terminación en el proceso en cadena radicalario, manteniendo una muy baja concentración de radicales, normalmente “enmascarados” en forma de un compuesto con un enlace lábil. Entre estos métodos se incluyen la polimerización radicalaria libre controlada (*Stable Free Radical Polymerization*, SFRP; también conocida como *Nitroxide Mediated Polymerization*, NMP) la polimerización por transferencia atómica (*Atom Transfer Radical Polymerization*, ATRP) y la polimerización por adición, fragmentación y transferencia reversible de cadena (*Reversible Addition-Fragmentation Transfer*, RAFT).

1.2. Polímeros supramoleculares

La Química Supramolecular tiene como objetivo la preparación de sistemas moleculares definidos (tanto en estructura como en propiedades) utilizando enlaces no covalentes. Los principios de la Química Supramolecular se pueden aplicar en la síntesis de polímeros, denominados polímeros supramoleculares. Estos quedan definidos como sistemas poliméricos que se extienden más allá de la molécula y que utilizan interacciones no covalentes para definir su ensamblado, conformación y/o comportamiento.² Existe una gran variedad de formas de unión supramolecular cuando estas están contenidas en la cadena principal, como podemos observar en la *Figura 1.9*. Estas uniones tienen lugar entre grupos complementarios que permiten un reconocimiento molecular para formar la estructura final.

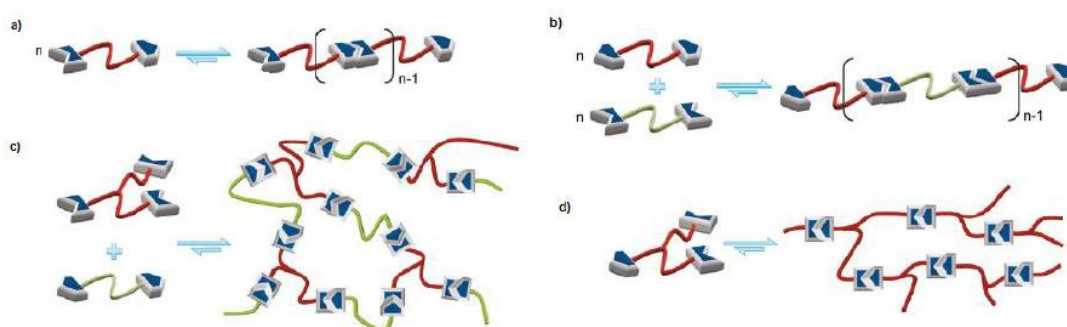


Fig.1.9. Diferentes polímeros supramoleculares: a) y b) homopolímeros lineales, c) red polimérica, y d) polímero supramolecular hiperramificado. (Adaptado ref. 2)

Otra posibilidad diferente a las anteriormente mostradas es el reconocimiento por enlaces no covalentes entre un polímero covalente y otro tipo de moléculas (*Figura 1.10*). De esta forma se obtienen polímeros supramoleculares de cadena lateral con propiedades diferentes a las del polímero de partida.

¹ C. Grande, F. Zuluaga, *Rev. Iberoam. Polim.*, **2010**, 11, 339-359.

² J. D. Fox, S. J. Rowan, *Macromolecules*, **2009**, 42, 6823-6835.

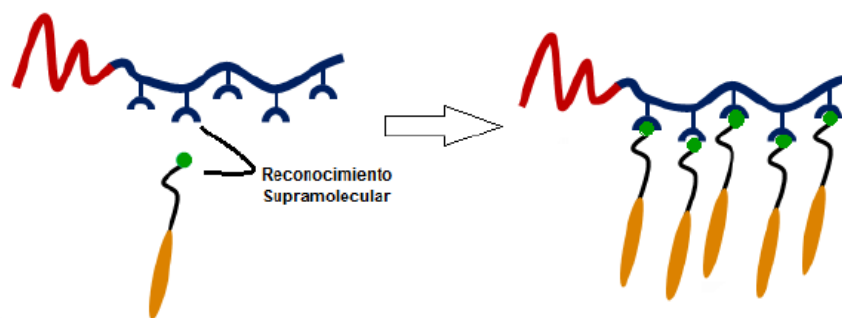


Fig.1.10. Formación de un copolímero bloque supramolecular con grupos laterales (denominado de cadena lateral) a partir de un copolímero covalente.

En la preparación de este tipo de materiales se pueden utilizar diferentes interacciones no covalentes como el enlace de hidrógeno, la interacción electrostática o la coordinación con metales.

1.3. Polímeros con respuesta a estímulos

Los polímeros sensibles a estímulos son sistemas poliméricos que modifican sus propiedades en respuesta a pequeños cambios en su entorno. Entre la variedad de estímulos posibles, se encuentran el pH, el campo eléctrico o el campo magnético, aunque los más destacados son la temperatura y la luz.

Los polímeros sensibles a la temperatura se caracterizan por presentar un particular balance hidrófilo-hidrófobo en su estructura. Pequeños cambios cercanos a una temperatura crítica provocan el colapso o expansión de las cadenas macromoleculares en respuesta a reajustes de las interacciones hidrófilas e hidrófobas en medios acuosos.

En cuanto a los polímeros sensibles a la luz o polímeros fotosensibles, son muy interesantes ya que este estímulo puede ser inducido de forma muy precisa y controlada en tiempo y espacio. La luz puede inducir cambios en su viscosidad, solubilidad, pH, conductividad, etc. En general, la fotorrespuesta se asocia a la presencia de grupos funcionales que son capaces de isomerizar o reaccionar al ser irradiados con luz de una longitud de onda concreta. Los compuestos más estudiados en este tipo de materiales son los derivados de azobenceno.

El azobenceno es una molécula orgánica sencilla formada por dos anillos aromáticos unidos por enlace diazoico ($N=N$). El término “azobenceno” se utiliza frecuentemente para referirse a diferentes moléculas que tienen azobenceno como núcleo central y que difieren en los sustituyentes de los grupos fenilo.

El azobenceno presenta dos isómeros: el isómero *trans* (E) y el isómero *cis* (Z). El isómero *trans* es termodinámicamente estable, pero si irradiamos con luz UV se produce el paso al isómero *cis*. Esta fotoisomerización produce un cambio en la forma geométrica de la molécula y en su polaridad. El retorno al isómero *trans* puede inducirse bien por luz, o bien por temperatura (Figura 1.11). El espectro UV-vis del azobenceno presenta dos bandas características: una de mayor intensidad correspondiente a una transición $\pi-\pi^*$, en torno a 365 nm (UV), y otra correspondiente a una transición $n-\pi^*$ sobre 430 nm (visible). Sin embargo estas longitudes de onda varían según la naturaleza de los sustituyentes (y por tanto también lo hace la longitud

de onda a la cual isomeriza). La irradiación en la región UV produce una isomerización reversible del isómero *trans* al isómero *cis*, el cual pierde la planaridad y es más polar y, por tanto, más hidrófilo.^{3, 4.}

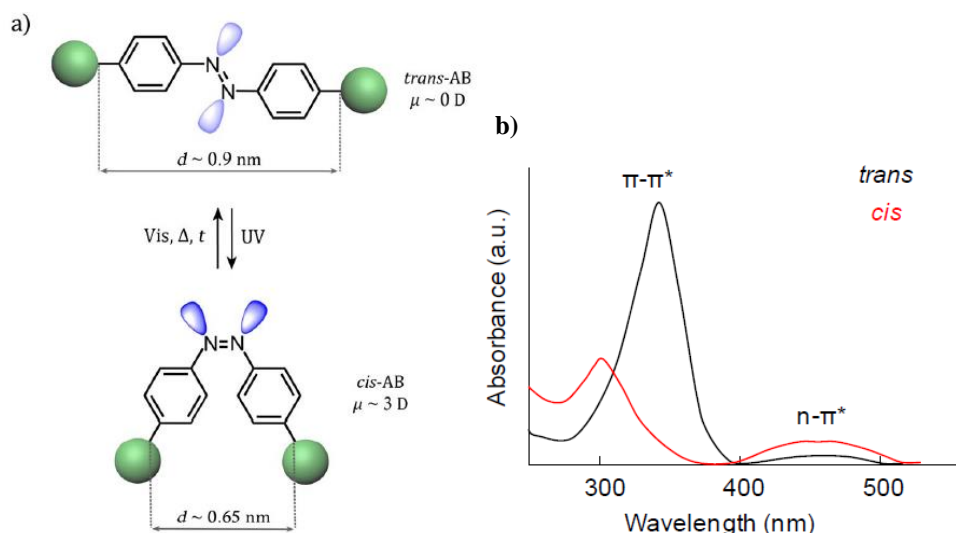


Fig.1.11. a) Isomerización del azobenceno (Adaptado ref. 3) b) Ejemplo de espectro UV típico de los dos isómeros de derivados de azobenceno (Adaptado ref. 4).

Una de las consecuencias de estos procesos de isomerización es el efecto Weigert, que consiste en la orientación inducida de las moléculas de azobenceno usando luz linealmente polarizada.⁵ Si se irradia a una frecuencia que sensibilice a las dos formas, se producirán ciclos sucesivos de isomerización *trans-cis-trans*. La absorción de luz linealmente polarizada es proporcional al cuadrado del coseno del ángulo formado entre el vector de polarización de la luz y el vector momento de transición de la molécula (que suele ser paralelo al eje molecular largo), por lo que tras varios ciclos tendremos las moléculas de azobenceno preferentemente orientadas en un plano perpendicular al vector de polarización de la luz. Esta es la base de la gran mayoría de aplicaciones descritas para los azobencenos como materiales.

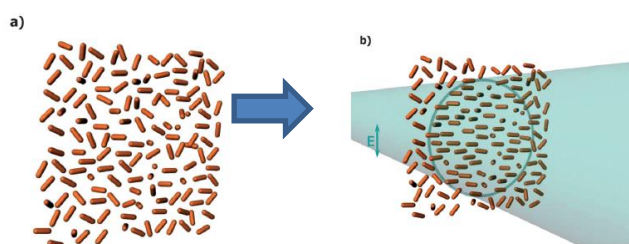


Fig.1.12. Generación de anisotropía fotoinducida en compuestos con unidades de azobenceno: a) distribución inicial aleatoria, b) distribución anisótropa final tras sucesivas isomerizaciones *trans-cis-trans*. (Adaptado ref.5)

La incorporación de estas unidades en copolímeros bloque lo hace interesante por sus aplicaciones en almacenamiento holográfico o en la preparación de nanobjetos con fotorrespuesta.

³ R. Klajn, *Pure Appl. Chem.*, **2010**, 82, 2247–2279.

⁴ E. Blasco, *Tesis Doctoral*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Julio **2013**.

⁵ S. Hvilsted, C. Sánchez, R. Alcalá, *J. Mater. Chem.* **2009**, 19, 6641–6648.

1.4. Antecedentes de copolímeros supramoleculares con azobenceno

Las micelas y vesículas poliméricas fotoestimulables constituyen un área de intensa investigación en el *Grupo de Cristales Líquidos y Polímeros (CLIP)* de la *Universidad de Zaragoza*, por su interés en transporte y liberación estimulada de sustancias de diversos tipos. Los primeros sistemas descritos se basan en copolímeros bloque anfífilos dendrítico-lineales funcionalizados con unidades de 4-cianoazobenceno.⁶ Estudios preliminares mostraron que las vesículas se deformaban e incluso se rompían al ser irradiadas con luz UV. Sin embargo, la presencia de grupos *ciano*, y las fuertes interacciones polares de estos grupos suponen un impedimento al proceso de isomerización.

Aunque se detectó respuesta frente a la luz en estas vesículas, es posible mejorarla si se introduce azobencenos que contengan una mayor diferencia de polaridad entre el isómero *cis* y *trans*, de forma que el isómero *cis* sea el más polar y se favorezca la apertura del agregado por irradiación con luz. Para ello, se utilizó 4-isobutiloxiazobenceno para funcionalizar copolímeros bloque anfífilos dendrítico-lineales,⁷ y a partir de las vesículas obtenidas se realizaron estudios de encapsulación-liberación de sondas fluorescentes, comprobándose que era posible controlar tanto el encapsulado como la posterior liberación estimulada con luz.

En este mismo grupo, más recientemente se han preparado series de polímeros supramoleculares fotodireccionables empleando derivados de azobencenos con grupos carboxi-terminales unidos por puentes de hidrógeno a las unidades de 4-vinilpiridina pertenecientes a copolímeros bloque.^{8, 9} También se han sintetizado copolímeros bloque supramoleculares por interacción mediante puentes de hidrógeno múltiples de copolímeros bloque con unidades de 2,6-diacilaminopiridina con derivados de azobencenos con grupos timina o carboxi-terminales.¹⁰

Por último, y también realizada en este mismo grupo, cabe destacar la preparación de copolímeros bloque anfífilos supramoleculares, basados en polietilenglicol como bloque hidrófilo y un polimetacrilato con unidades de 2,6-diacilaminopiridina como bloque hidrófobo, mediante la interacción por enlaces de hidrógeno múltiples de estas unidades, con derivados de timina que contienen el azobenceno junto con otros derivados de timina que sólo contienen cadenas hidrocarbonadas, con el fin de disminuir las interacciones entre azobencenos y favorecer la isomerización de estos.¹¹ El hecho de modificar la composición de los copolímeros bloque y, ver su influencia en propiedades físicas, autoensamblado, así como en la funcionalización e isomerización de azobencenos motivó este Trabajo Fin de Grado.

⁶ J. del Barrio, L. Oriol, C. Sánchez, J. L. Serrano, A. Di Cicco, P. Keller, M. H. Li, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 3762-3769.

⁷ E. Blasco, J. del Barrio, C. Sánchez-Somolinos, M. Piñol, L. Oriol, *Polym. Chem.*, **2013**, 4, 2246-2254.

⁸ J. del Barrio, E. Blasco, L. Oriol, R. Alcalá, C. Sánchez-Somolinos, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2013**, 51, 1716-1725.

⁹ J. del Barrio, E. Blasco, C. Toprakcioglu, A. Koutsoubas, O. A. Scherman, L. Oriol, C. Sánchez-Somolinos, *Macromolecules*, **2014**, 47, 897-906.

¹⁰ A. Concellón, E. Blasco, M. Piñol, L. Oriol, I. Díez, C. Berges, C. Sánchez-Somolinos, R. Alcalá, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2014**, 52, 3173-3184.

¹¹ L. Labarta, *Trabajo Fin de Grado*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Junio **2014**.

2. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

El objetivo de este trabajo es la síntesis y caracterización de copolímeros bloque supramoleculares anfífilos y el autoensamblaje de los mismos en agua. De acuerdo a los antecedentes previos, estos copolímeros bloque contienen unidades repetitivas con anillos de 2,6-diacilaminopiridina capaces de formar enlaces de hidrógeno múltiples con derivados de timina que contienen unidades de azobenceno para dar lugar a los copolímeros bloque supramoleculares.

Además se formarán autoensamblados poliméricos (micelas o vesículas) en agua que pueden ser utilizados en el transporte de moléculas hidrófobas. La liberación de las mismas puede promoverse por la respuesta a la luz de los cromóforos azobenceno introducidos o incluso al pH de la unidad de 2,6-diacilaminopiridina.

El monómero precursor de las interacciones supramoleculares debe tener la capacidad de unirse por enlaces de hidrógeno a los derivados de azobenceno con timina se utilizan en el grupo de investigación. En este trabajo se ha utilizado el monómero siguiente, denominado DAP, y que ha sido previamente sintetizado en los laboratorios del grupo CLIP (por M. A. Revuelta), de acuerdo al proceso descrito en la *Ref. 10*:

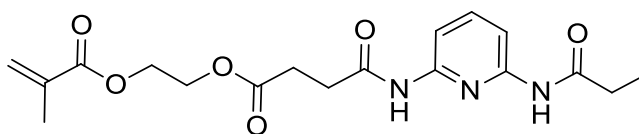


Fig.2.1. Monómero con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina (DAP).

Además del DAP, utilizado previamente, en este TFG se va a emplear como comonómero el metacrilato de 3,6-dioxiheptanoilo (*Figura 2.2*), derivado de dietilenglicol, con el objetivo de que la parte hidrófoba del copolímero bloque sea más polar, lo que debe favorecer la disgregación de las nanopartículas al ser irradiadas, a causa de la isomerización de los azocompuestos. Además, este monómero evita que se produzca la agregación de los azocompuestos entre sí. Este monómero es comercial.

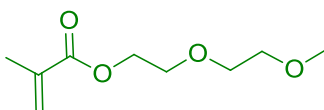


Fig.2.2. Metacrilato de dietilenglicol.

De acuerdo a esto, el planteamiento y las tareas específicas programadas para este TFG han sido las siguientes:

2.1.- Preparación y caracterización de los copolímeros estadísticos de PDAP-*st*-PDEGMA

Con estos monómeros, en primer lugar se sintetizan los copolímeros estadísticos de PDAP-*st*-PDEGMA con el fin de comprobar que los monómeros se introducen en la cadena en las proporciones deseadas (se hacen tres series variando las proporciones de DAP y de DEGMA) y poder estudiar también su solubilidad. Su estructura es consecuencia del método de preparación utilizado, la polimerización controlada RAFT.

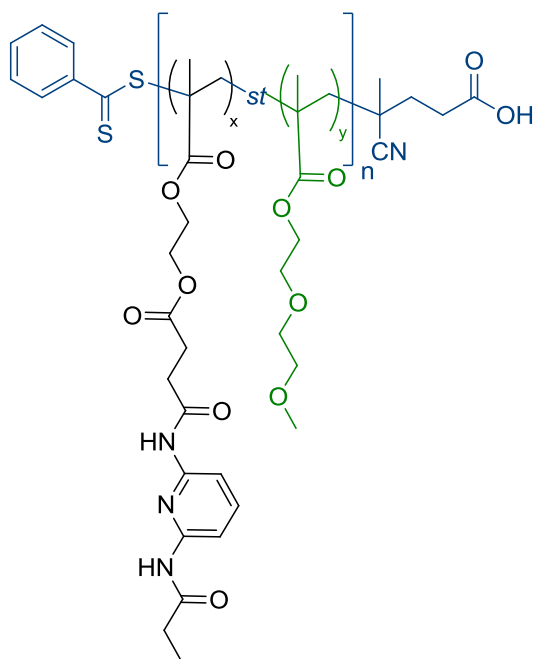


Fig.2.3. Estructura polimérica del PDAP-st-PDEGMA ($x+y=1$).

2.2.- Preparación y caracterización de los copolímeros bloque de PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA)

El copolímero objetivo PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA) es un copolímero bloque anfífilo. Por una parte, consta de un bloque hidrófilo derivado de polietilenglicol con una masa molecular aproximada de 10000. Por otra parte, de un bloque hidrófobo formado por los monómeros antes citados (DAP y DEGMA), distribuidos en dicho bloque de forma estadística. Al igual que en los copolímeros estadísticos, también se hacen tres series variando las proporciones de DAP y DEGMA (las mismas proporciones que se emplean en la síntesis de los copolímeros estadísticos). Su estructura es consecuencia del método de preparación utilizado, la polimerización RAFT.

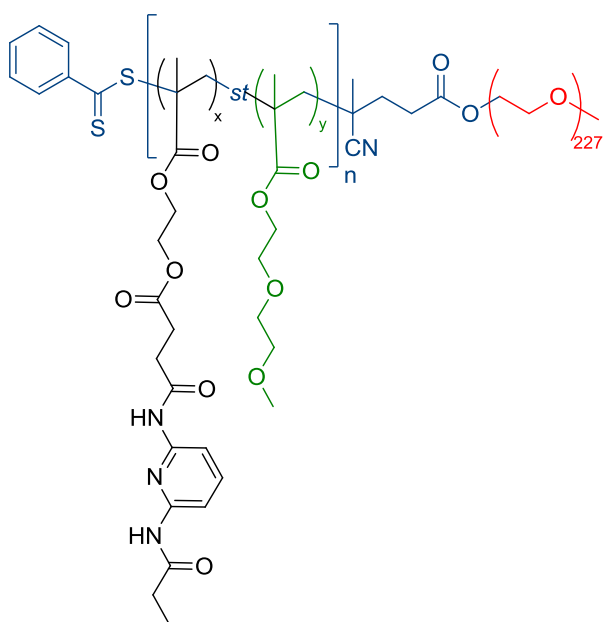


Fig.2.4. Estructura polimérica del PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA) ($x+y=1$).

2.3.- Preparación y caracterización de los copolímeros supramoleculares

Estos copolímeros se unirán a un derivado de timina que contiene el azocompuesto mediante enlaces de hidrógeno para formar polímeros supramoleculares de cadena lateral. La timina es capaz de formar tres enlaces de hidrógeno con la unidad de 2,6-diacilaminopiridina del monómero. El derivado de timina escogido, previamente sintetizado y disponible en el laboratorio, contiene el grupo cromóforo 4-isobutiloxiazobenceno (timAZO) y su estructura:

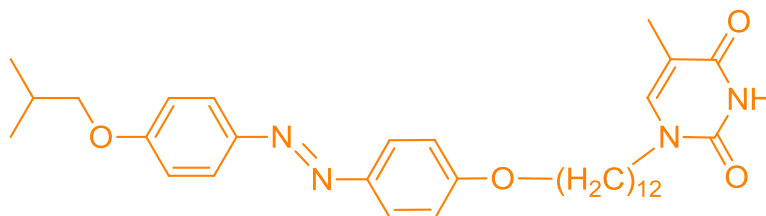


Fig.2.5. Derivado de timina que contiene el 4-isobutiloxiazobenceno (timAZO).

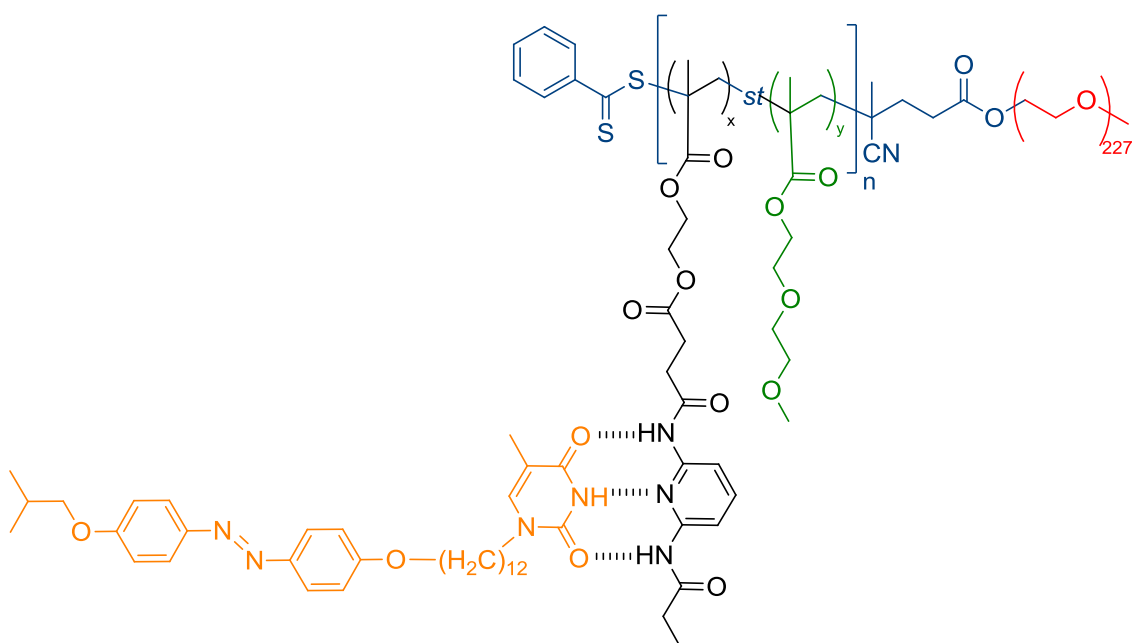


Fig.2.6. Interacciones supramoleculares entre una unidad repetitiva de PDAP del copolímero bloque con el timAZO.

2.4.- Preparación y caracterización de micelas o vesículas poliméricas

La última parte del TFG consiste en comprobar si es posible preparar micelas o vesículas poliméricas resultantes del autoensamblado tanto de los copolímeros bloque, como de los copolímeros bloque supramoleculares, en medio acuoso, así como del estudio de su posible morfología mediante microscopía electrónica.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1.- Síntesis y caracterización de los copolímeros estadísticos de PDAP-st-PDEGMA

La síntesis de los polímeros se llevó a cabo mediante polimerización radicalaria por adición, fragmentación y transferencia reversible de cadena (*Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer*, **RAFT**), que es una polimerización controlada, descrita por primera vez por el grupo de Rizzardo, Moad y Thang^{12, 13, 14, 15}.

Esta polimerización se caracteriza por el empleo de un agente de transferencia de cadena (*Chain Transfer Agent*, CTA) que contiene grupos funcionales como ditioéster, xantato, ditiocarbamato, etc. La elección del agente de transferencia de cadena se hace en función del monómero que se quiere polimerizar, ya que influye en la obtención de polímeros bien definidos, tanto en el control de la masa molecular como en la polidispersidad. La clave del mecanismo de la polimerización RAFT (Figura 3.1) es una secuencia de equilibrios de adición-fragmentación como los mostrados.

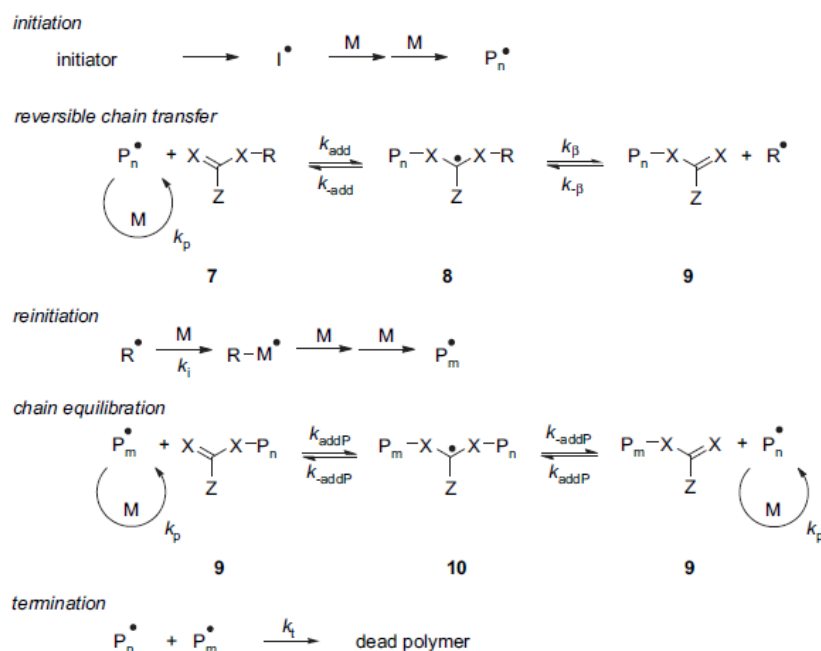


Fig.3.1. Mecanismo de una polimerización RAFT (Adaptado ref. 15)

Al igual que en la polimerización radicalaria tradicional, la fuente de iniciación es un compuesto con un enlace lábil, como son determinados azocompuestos (AIBN, por ejemplo) o peróxidos orgánicos. Tanto la iniciación como la terminación transcurren como en una polimerización radicalaria tradicional. En las primeras etapas de la polimerización se forma un radical de propagación (P_n^\bullet) que se adiciona al agente de transferencia de cadena, y a continuación se produce la fragmentación del enlace R-X. Así se obtiene un polímero unido en

¹² J. Chiefari, Y. K. B. Chong, F. Ercole, J. Krstina, J. Jeffery, T. P. T. Le, R. T. A. Mayadunne, G. F. Meijs, C. L. Moad, G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Macromolecules*, **1998**, 31, 5559-5562.

¹³ G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Polymer.*, **2008**, 49, 1079-1131.

¹⁴ D. J. Keddie, G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Macromolecules*, **2012**, 45, 5321-5342.

¹⁵ G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, *Aust. J. Chem.*, **2005**, 58, 379-410.

uno de sus extremos al CTA (un polímero “latente” en el que el extremo reactivo está desactivado pero puede ser fragmentado de nuevo) y un nuevo radical ($R\bullet$), que sigue reaccionando con el monómero para formar un nuevo radical de propagación ($P_m\bullet$). El rápido equilibrio entre los dos radicales de propagación y el polímero unido al CTA proporcionan la misma probabilidad de crecimiento de todas las cadenas y permiten la obtención de polímeros con poca dispersidad. Como sucede con todas las técnicas de polimerización radicalaria controlada, la etapa de terminación no puede ser enteramente suprimida, aunque, cuando la polimerización se completa, muchas cadenas retienen el CTA como grupo terminal y pueden ser aislados como materiales estables.

Estas macromoléculas con un CTA terminal se pueden emplear como agentes de transferencia en posteriores procesos de polimerización con otros monómeros para obtener copolímeros bloque. En este caso se denominan macro-CTA.

La reacción de polimerización RAFT llevada a cabo para la obtención de los copolímeros estadísticos PDAP-*st*-PDEGMA es la siguiente:

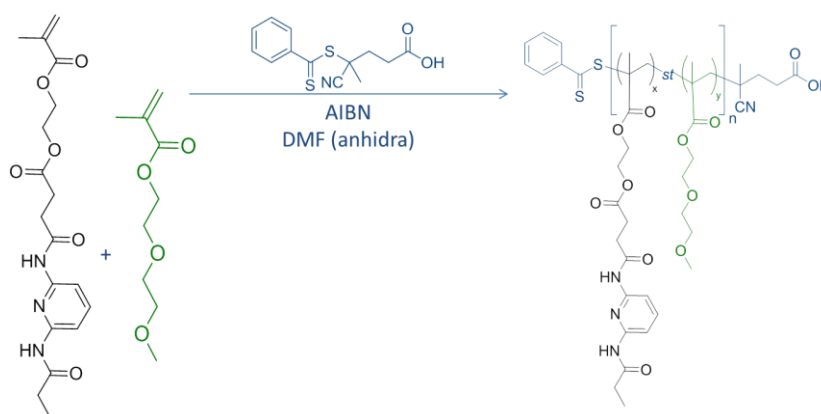


Fig.3.2.Reacción de polimerización RAFT para la obtención de los polímeros PDAP-*st*-PDEGMA.

Se sintetizaron tres de estos copolímeros utilizando los monómeros DAP y DEGMA en las siguientes proporciones respectivamente: **75:25** que se sintetizó por duplicado, variando el tiempo de reacción (3 y 5 horas), para conocer su influencia en la polimerización; **50:50**; **25:75**. Para todos se utilizó el CTA que aparece en la *Figura 3.2*, un ditiobenzoato que está aconsejado para polimerizar metacrilatos.¹⁶ También se utiliza AIBN (azobis-isobutironitrilo), que es un iniciador radicalario térmico, y DMF recién destilada como disolvente. Las masas molares teóricas que se esperan obtener se pueden conocer utilizando la ecuación 3.1 (suponiendo conversión igual a 1 para ambos monómeros), donde $[M_{DAP}]$ es la concentración inicial del monómero DAP, $[M_{DEGMA}]$ es la concentración inicial del monómero DEGMA, $[CTA]$ la concentración inicial de CTA, PM_{DAP} la masa molar del monómero DAP, PM_{DEGMA} la masa molar del monómero DEGMA y PM_{CTA} la masa molar del CTA (se incluye en la fórmula dado que forma los grupos terminales de la cadena).

$$M_n(\text{Teórica}) = \left(\frac{[M_{DAP}]}{[CTA]} \times PM_{DAP} \times \text{conversion} \right) + \left(\frac{[M_{DEGMA}]}{[CTA]} \times PM_{DEGMA} \times \text{conversion} \right) + PM_{CTA}$$

Ecuación 3.1.

¹⁶ ALDRICH comercializa estos CTA y tiene información al cliente en la siguiente página web:
<http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/polymer-science/raft-polymerization.html#classes>

La reacción se llevó a cabo en atmósfera inerte, realizando previamente tres ciclos de argón-vacío, con el objetivo de eliminar el O_2 , ya que es un inhibidor radicalario. Tras estos ciclos, el matraz de reacción se introdujo en un baño precalentado ($80^\circ C$) temperatura a la que el AIBN ya se descompone homolíticamente. Si la reacción no empieza a una temperatura fija, la concentración de radicales no sería constante y el equilibrio del mecanismo se alteraría. Una vez iniciada la reacción se dejó transcurrir durante 5 horas y para finalizarla se introdujo el matraz en nitrógeno líquido (*quenching*). El tiempo de reacción se fijó de trabajos propios previos, si bien se hizo una prueba con menor tiempo. El copolímero precipitó por adición del crudo de reacción sobre dietil éter frío. En el caso de los dos polímeros **75:25** (DAP:DEGMA) se filtraron por succión, con alguna dificultad por obturación de las placas, dado que su masa molar no es muy elevada, y se lavaron con dietil éter frío para eliminar los posibles restos de disolventes u otras impurezas solubles. En el caso de los polímeros **50:50** y **25:75** (DAP:DEGMA), se probó a filtrarlos y a centrifugarlos, pero no se obtuvo resultado, por lo que finalmente se optó por evaporar el disolvente y lavarlos varias veces con hexano para eliminar los restos de monómero y otras impurezas que pudieran tener. Además, se realizaron varias extracciones con agua para eliminar los restos de DMF. El polímero **25:75** sí que pudo ser purificado, pero no se consiguió totalmente con el polímero **50:50**, en el cual quedan restos de monómero (según RMN). Estos polímeros no presentan el mismo aspecto que el resto, sino que se trata de pastas muy viscosas, debido al alto porcentaje de las unidades de DEGMA.

La masa molecular promedio y la distribución de estos polímeros se obtuvieron mediante cromatografía de exclusión por tamaños o permeación en gel (GPC) con un detector de difusión de luz (*Light Scattering*) y utilizando estándares de poli(metacrilato de metilo) (*Ver Apartado B.1 de Anexos*). La caracterización básica se llevó a cabo por FTIR y 1H -RMN (*Ver Apartado A.1 de Anexos*). Por 1H -RMN se ha podido calcular la relación relativa entre las dos unidades repetitivas que forman el copolímero (x/y). Para ello se utilizaron como referencia las integraciones relativas de las señales correspondientes al bloque PDAP, y se compararon con la integración de la señal correspondiente a los hidrógenos $-OCH_3$ del bloque de PDEGMA. De esta forma, se ha comprobado que los monómeros han entrado en las proporciones deseadas, es decir, coincidentes con la relación de alimentación, lo que indica que ambos reaccionan de igual manera (como era de esperar al tener el mismo grupo metacrilato reactivo) y por tanto podemos asumir una distribución al azar de ambas unidades a lo largo de la cadena polimérica. Sin embargo, no se ha podido determinar el grado de polimerización n (es decir, el número absoluto de unidades que han entrado de cada tipo), ya que habría que tomar como referencia las integrales de las señales propias del CTA que actúa de grupo terminal, pero quedan ocultas en el espectro. Por tanto, no se pudo evaluar cómo el tiempo de reacción influía en el grado de polimerización.

La técnica de GPC no es una técnica absoluta (ya que utilizamos patrones de PMMA) a la hora de dar las masas molares de los polímeros obtenidos, por ello, y como podemos ver en la *Tabla 3.1*, estas difieren de lo que se espera teóricamente. Por otra parte, la dispersidad de las masas molares es relativamente baja, lo que corrobora que la polimerización ha transcurrido por un mecanismo controlado de polimerización radicalaria.

Tabla 3.1. Masas molares de los copolímeros estadísticos.

Polímero	M _n Teórica (g/mol)	M _n GPC (g/mol)	M _m /M _n GPC
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (75:25)	15485	13000	1,24
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (50:50)	12688	8680	1,23
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (25:75)	11137	9160	1,18

La estabilidad térmica del polímero se estudió mediante termogravimetría (TGA). En la *Tabla 3.2* se recogen los datos más importantes sobre el primer proceso de pérdida de masa (*Ver Apartado D.1 en Anexos*). En general, no se observan pérdidas significativas asociadas a compuestos volátiles, y tienen una estabilidad adecuada hasta aprox. 200°C. Por DSC (*Ver Apartado E.1 en Anexos*) se comprobó que los tres copolímeros son amorfos, solo presentan una transición vítrea. Como cabría esperar en un copolímero estadístico, los valores de la temperatura de transición vítrea (T_g) (*ver Tabla 3.2*) son valores intermedios entre los correspondientes homopolímeros, PDAP ($T_g = 73^\circ\text{C}$), ¹⁷ y PDEGMA, ($T_g = -40^\circ\text{C}$), ¹⁸ y además se observa que disminuyen al aumentar la proporción del monómero DEGMA.

Tabla 3.2. Temperaturas de descomposición determinadas por termogravimetría y temperaturas de transición vítrea, determinadas por DSC.

Polímero	T pérdida 2% masa	T pérdida 5% masa	T onset DGTA	T max DGTA	T _g DSC
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (75:25)	210 °C	245 °C	255 °C	310 °C	60 °C
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (50:50)	180 °C	210 °C	195 °C	230 °C	27 °C
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (25:75)	200 °C	230 °C	235 °C	275 °C	11 °C

3.2.- Preparación y caracterización de los copolímeros bloque de PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA)

La reacción de polimerización RAFT llevada a cabo para la obtención de los copolímeros bloque PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) es la que se presenta en la *Figura 3.3*.

En este caso también se sintetizaron tres de estos polímeros utilizando los monómeros DAP y DEGMA en las siguientes proporciones respectivamente: **75:25**; **50:50**; **25:75**. Antes de la síntesis de estos polímeros, también se preparó otro copolímero de prueba cuyo bloque hidrófobo estaba formado únicamente por DAP (PEG₁₀₀₀₀-*b*-PDAP) como referencia para estos materiales (en este caso $y=0$).

Para la síntesis de estos polímeros se utilizó un macro-CTA comercial que contiene PEG de masa molar aprox. 10000 (por tanto en el CTA ya se introduce uno de los bloques del copolímero bloque final) y con estructura análoga al utilizado en la preparación de copolímeros estadísticos. También se utiliza AIBN como iniciador y DMF recién destilada como disolvente. Como ocurría con los copolímeros estadísticos, las masas molares teóricas que se esperan se pueden conocer utilizando la *ecuación 3.1*.

¹⁷ A. Concellón, *Trabajo Fin de Máster*, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Junio **2013**

¹⁸ S. Han, M. Hagiwara, T. Ishizone, *Macromolecules*, **2003**, 36, 8312-8319

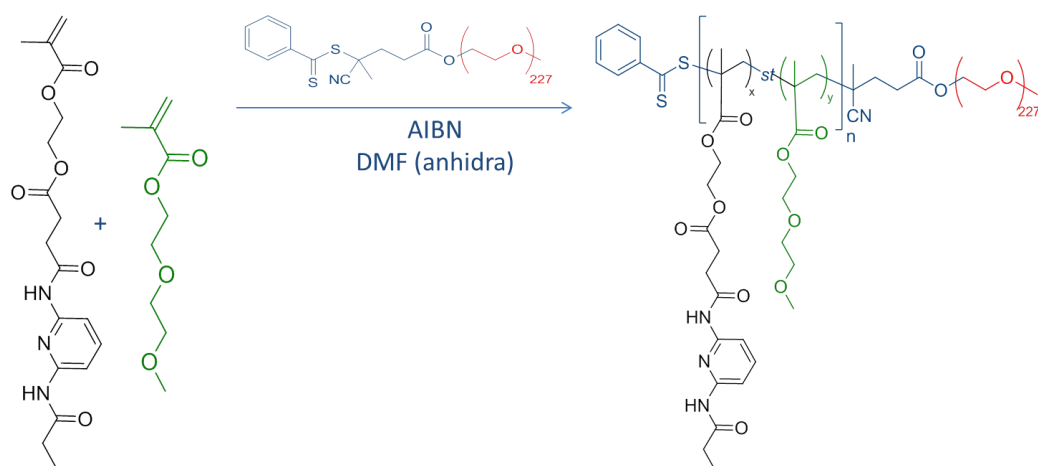


Fig.3.3. Reacción de polimerización RAFT para obtener copolímeros PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA).

La reacción se realizó siguiendo el mismo procedimiento que para los copolímeros estadísticos. En este caso, todos los copolímeros se purificaron de los restos de disolvente y otras impurezas mediante filtración y lavado con dietiléter frío sin problema alguno, ya que presentan masas molares elevadas (hay que considerar que utilizamos un macro-CTA).

La masa molar promedio y la distribución de estos polímeros se obtuvieron mediante cromatografía de exclusión por tamaños o permeación en gel (GPC) con un detector de difusión de luz (*Light Scattering*) y utilizando estándares de poli(metacrilato de metilo) (*Ver Apartado B.2 de Anexos*). La caracterización básica se llevó a cabo por FTIR y ¹H-RMN (*Ver Apartado A.2 de Anexos*). En este caso, además de hallar la relación entre las dos unidades repetitivas que forman el copolímero por ¹H-RMN, (proporciones x e y, empleando el mismo método que para los copolímeros estadísticos se ha comprobado que los monómeros han entrado en las proporciones deseadas) también se ha podido determinar el número de unidades repetitivas de cada monómero (es decir, los valores xn e yn) puesto que se puede tomar como referencia las integrales del bloque de PEG, y como se conoce su masa, determinar el grado de polimerización del otro bloque (n, y por tanto valores xn e yn). De esta forma es posible calcular la masa molecular total del copolímero bloque. Los resultados obtenidos se muestran en la *Tabla 3.3*.

Tabla 3.3. Masas molares de los copolímeros bloque.

Polímero	M _n Teórica (g/mol)	M _n ¹ H-RMN (g/mol)	Unidades DAP/DEGMA	M _n GPC (g/mol)	M _m /M _n GPC
PEG ₁₀₀₀₀ -b-PDAP	28919	22450	33 / 0	6445	1,11
PEG ₁₀₀₀₀ -b-(PDAP-st-PDEGMA) (75:25)	26305	23390	30 / 11	8780	1,12
PEG ₁₀₀₀₀ -b-(PDAP-st-PDEGMA) (50:50)	23798	20935	18 / 22	7740	1,13
PEG ₁₀₀₀₀ -b-(PDAP-st-PDEGMA) (25:75)	21615	19985	11 / 31	8250	1,16

La técnica de GPC no es una técnica absoluta a la hora de dar las masas moleculares de los polímeros obtenidos, por ello, y como podemos ver en la *Tabla 3.3*, estas difieren de lo que se

espera teóricamente. Por otra parte, la dispersidad de las masas molares es relativamente más baja que en el caso de los copolímeros estadísticos, lo que corrobora que la polimerización ha transcurrido por un mecanismo controlado de polimerización radicalaria, y de hecho a la vista de estos resultados, la macro-CTA permite un mejor control sobre el crecimiento de cadena que la CTA utilizada para los copolímeros estadísticos. Máxime considerando que esta macro-CTA ya introduce una dispersión de valores al no tratarse de una especie molecular única (variación del grado de polimerización del PEG).

La estabilidad térmica del polímero se estudió mediante termogravimetría (TGA). En la *Tabla 3.4* se recogen los datos más importantes sobre la primera transformación (*Ver Apartado D.2 en Anexos*). Se observa que los copolímeros son estables hasta aproximadamente 240 °C, y que no hay pérdidas de masa asociadas a restos de disolvente o captación de agua.

Tabla 3.4. Temperaturas de descomposición determinadas por Termogravimetría, y temperaturas de transición vítrea (T_g), cristalización fría (T_c) y fusión (T_m) determinadas por DSC.

Polímero	T pérdida 2% masa	T pérdida 5% masa	T onset DGTA	T max DGTA	T_g DSC	T_c / T_m DSC
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -PDAP	230 °C	250 °C	240 °C	295 °C	8 °C	----
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (75:25)	230 °C	250 °C	240 °C	290 °C	-3 °C	----
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (50:50)	215 °C	250 °C	235 °C	280 °C	-25 °C	38/53 °C
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (25:75)	230 °C	255 °C	250 °C	280 °C	----	-19/53 °C

Por DSC (*Ver Apartado E.2 en Anexos*) se comprobó que estos copolímeros bloque inicialmente son al menos parcialmente cristalinos, presentan una fusión sobre 50 °C correspondiente al bloque de PEG, pero cuando funden y se enfrían a velocidad controlada, no se observa que cristalicen. En el segundo calentamiento, el copolímero PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (75:25) solo presenta una transición vítrea a -3 °C (ver valores en la *Tabla 3.4*), lo que indicaría que ambos bloques son miscibles (al menos parcialmente) entre sí. En caso contrario, y como sucede en la mayoría de copolímeros bloque, se verían las transiciones correspondientes a cada uno de los bloques por separado, es decir, la fusión del PEG cristalino y la T_g del bloque estadístico. Este comportamiento ya se observa en el copolímero bloque PEG₁₀₀₀₀-*b*-PDAP preparado como referencia.¹⁷ La misma situación se reproduce con PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (50:50) y PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (25:75), en los que el valor de T_g (-25 y < -50 °C respectivamente) disminuye al aumentar la proporción de DEGMA. La diferencia en el caso de estos polímeros con respecto al primero es que por encima de T_g se observa un proceso de cristalización fría y un posterior proceso de fusión, que coincide con la temperatura de fusión del CTA-PEG₁₀₀₀₀ (T_m =58 °C)¹⁷. Además se observa que la entalpía de cristalización es la misma que la de fusión, lo que indica que todo lo que cristaliza es lo que posteriormente funde.

3.3.- Preparación y caracterización de los copolímeros supramoleculares

Los copolímeros supramoleculares se formaron una vez obtenidos los copolímeros bloque del apartado anterior, utilizando además un derivado de timina que contiene el grupo cromóforo 4-isobutiloxiazobenceno (timAZO). La preparación consistió en pesar una cantidad aproximadamente fija de copolímero y cantidades variables de timAZO, considerando que

todas las unidades de 2,6-diacilaminopiridina se unen a timina (es decir, estequiometría 1:1). Una vez pesados se disolvieron en THF, que es un disolvente común a ambos, se evaporó lentamente el disolvente (con agitación mecánica) y se obtuvieron los polímeros por reconocimiento supramolecular mediante enlaces de hidrógeno.

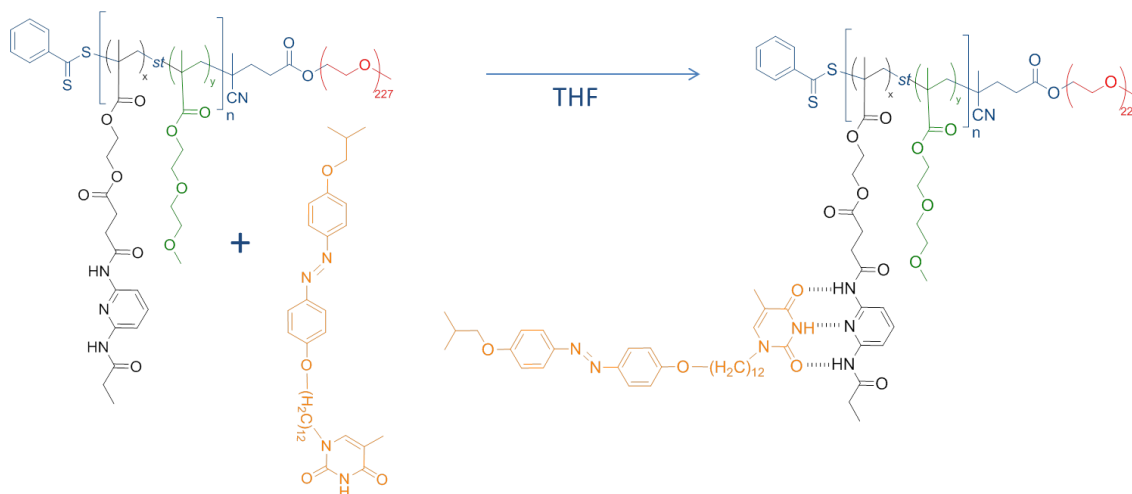


Fig.3.4. Esquema de la formación de copolímeros supramoleculares.

Estos copolímeros supramoleculares se caracterizaron mediante espectroscopía FTIR y ^1H -RMN, técnicas útiles para la determinación de asociaciones por enlaces de hidrógeno.

Para su estudio por espectroscopía FTIR, se hicieron pastillas de KBr con los polímeros. Podemos ver un ejemplo de los resultados obtenidos en la *Figura 3.5*. El resto de los espectros se pueden ver en el *Apartado C.1 de Anexos*.

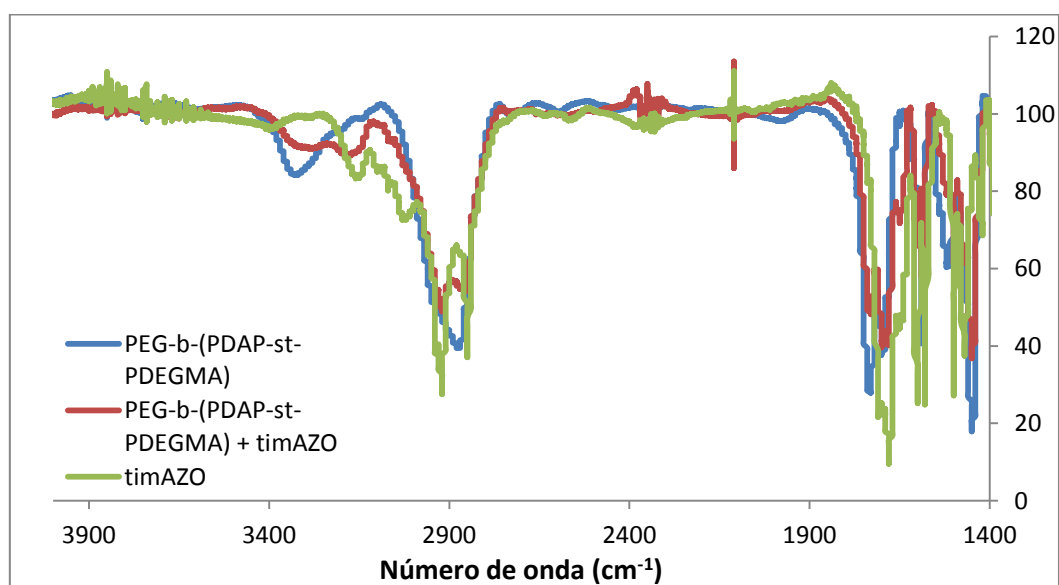


Fig.3.5. Espectro de FTIR de $\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)} \bullet \text{timAZO}$ (50:50) y sus componentes por separado: $\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)}$ (50:50) y timAZO.

En los tres casos se aprecia una disminución del número de onda, en la banda de tensión N-H ($3300\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$), del copolímero supramolecular frente al copolímero inicial. Esto se debe a los enlaces de hidrógeno que forman las timinas con las unidades de 2,6-diacilaminopiridina de los polímeros debilitan el enlace N-H, y por tanto se desplaza a menores números de onda.

La formación de enlaces de hidrógeno también se evidencia claramente en el estudio por ^1H -RMN, ya que al producirse la unión supramolecular, los hidrógenos implicados en estos enlaces se ven más desapantallados, por lo que aumentan su desplazamiento respecto a los compuestos de partida. Podemos ver un ejemplo en la *Figura 3.6* (ver el resto de espectros en el *Apartado C.2 de Anexos*) donde se recoge la región espectral en la que aparecen los denominados protones H_a (del grupo diacilaminopiridina) y H_b (timina) tanto en los compuestos de partida, como en el copolímero supramolecular (representado en verde). Se observa un claro desplazamiento y la ausencia de señales originales en el espectro del copolímero supramolecular, lo que indica que se forman estas especies supramoleculares y se mantienen en las condiciones de medida.

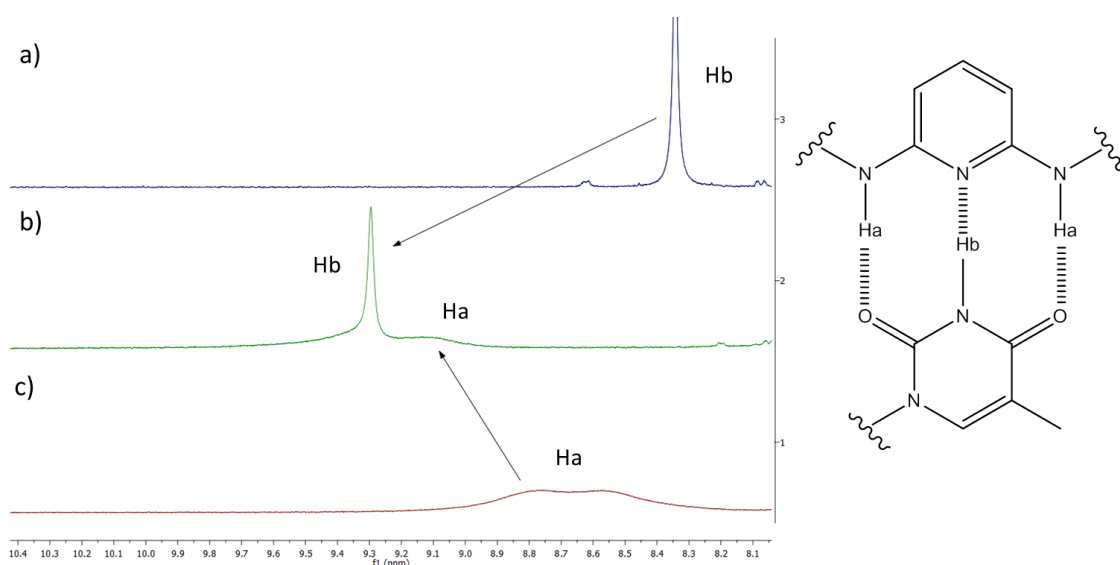


Fig. 3.6. Detalle del espectro ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) [10.4-8 ppm] de: a) timAZO, b) $\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)} \bullet \text{timAZO}$ (75:25) y c) $\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)}$ (75:25)

Estos polímeros supramoleculares también fueron estudiados por TGA para ver su estabilidad térmica y DSC. Los resultados obtenidos del análisis por TGA sobre la primera pérdida de masa observada se presentan en la *Tabla 3.5* (véase gráficas del *Apartado D.3 de Anexos*). No se apreció que disminuyera la estabilidad térmica con respecto a los compuestos de partida.

Tabla 3.5. Estabilidad térmica determinada por Termogravimetría, y temperaturas de fusión (T_{m1} y T_{m2}) determinadas por DSC.

Polímero	T pérdida 2% masa	T pérdida 5% masa	T onset DGTA	T max DGTA	T_{m1}/T_{m2} DSC
$\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)} \bullet \text{timAZO}$ (75:25)	240 °C	255 °C	230 °C	275 °C	49°C/158°C
$\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)} \bullet \text{timAZO}$ (50:50)	250 °C	265 °C	245 °C	280 °C	52°C/155°C
$\text{PEG}_{10000}\text{-b-(PDAP-st-PDEGMA)}$ • timAZO (25:75)	240 °C	265 °C	240 °C	285 °C	52°C/150°C

En cuanto al estudio por DSC, las curvas indican que la incorporación de la unidad azobenceno reduce la miscibilidad de ambos bloque, ya que se observan transiciones asociadas a cada uno de ellos. La ausencia de transiciones vítreas indica el carácter semicristalino de ambos bloques.

Se observa un proceso de fusión en torno a 50 °C (T_{m1}) correspondiente al bloque de PEG¹⁷ y otro en torno a 150 °C (T_{m2}) correspondiente al bloque PDAP-st-PDEGMA asociado al timAZO.¹¹ Esta última fusión se ve tras procesos de cristalización fría. Las curvas se muestran en el *Apartado E.3 de Anexos*.

3.4.- Preparación y caracterización de micelas o vesículas poliméricas

Las nanopartículas o ensamblados poliméricos en agua se prepararon por disolución del copolímero bloque en THF y adición de agua Milli-Q lentamente hasta que se produce la agregación (micelación). Este proceso se sigue en el espectrómetro UV-vis, midiendo la absorbancia a $\lambda = 650\text{nm}$. En un sentido estricto no se está midiendo la absorbancia de la muestra sino que lo que realmente se determina de forma indirecta es la variación de dispersión de la luz, ya que al ir formándose los agregados, la disolución se vuelve más turbia, y dispersa más la luz (aparentemente absorbe). En las *Figuras 3.7, y 3.8* se puede ver el proceso, donde el salto indica el momento en el que se empiezan a formar los agregados. Una vez formados se someten a diálisis para eliminar el disolvente orgánico. Cabe destacar, que en el caso de los agregados de los copolímeros supramoleculares, al producirse el salto se observa la aparición de precipitado.

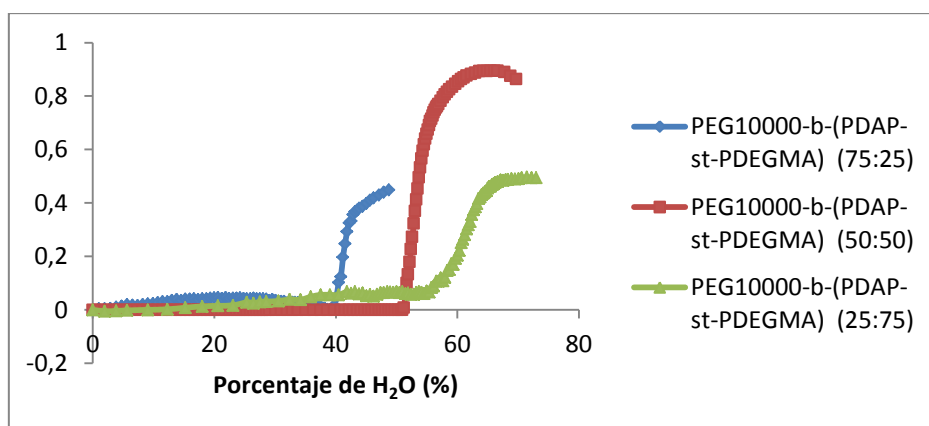


Fig. 3.7. Curvas turbidimétricas observadas en la preparación de autoensamblados de PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA)

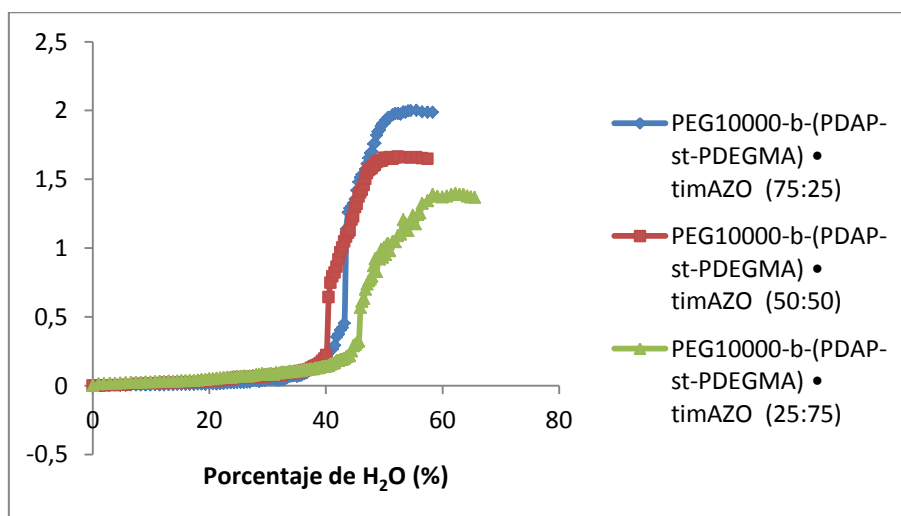
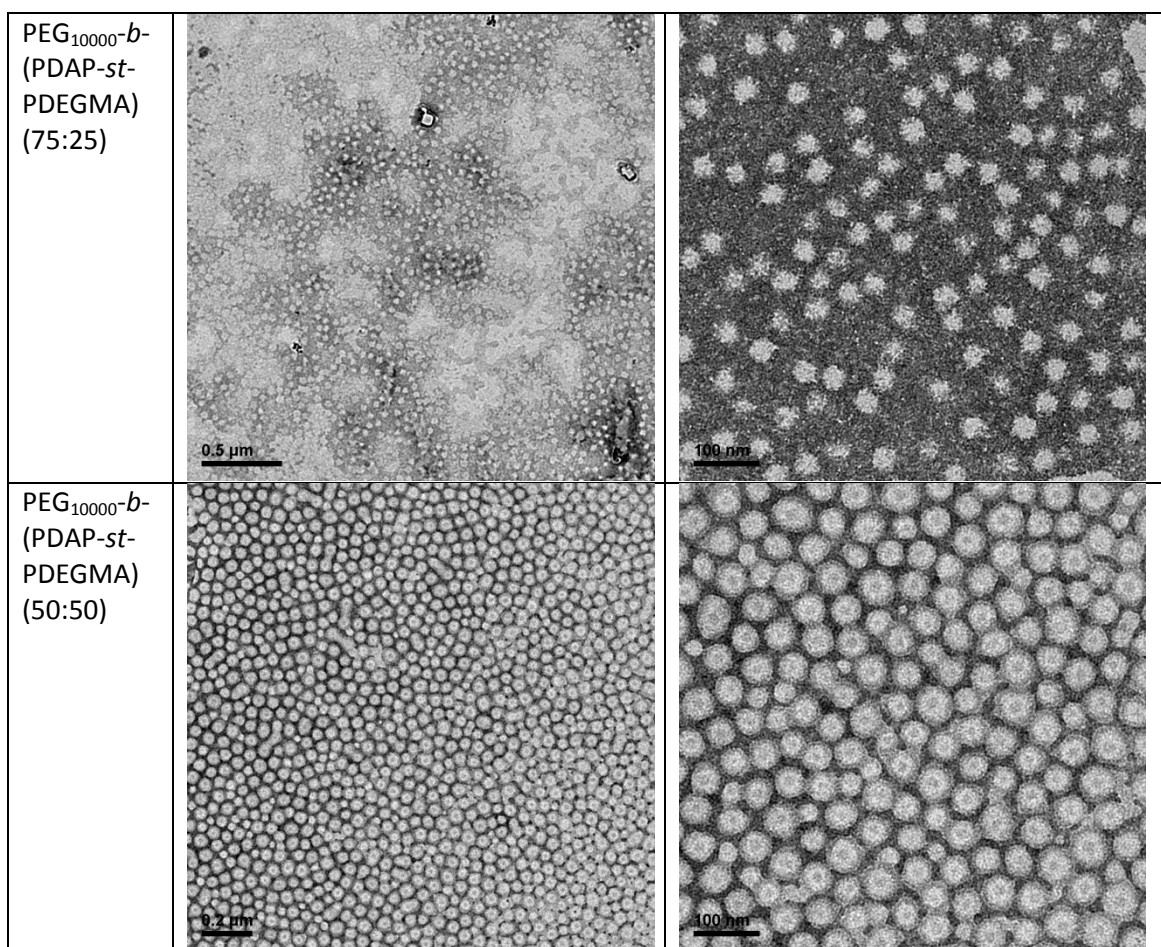


Fig. 3.8. Curvas turbidimétricas observadas en la preparación de autoensamblados de PEG₁₀₀₀₀-b-(PDAP-st-PDEGMA) • timAZO

Una vez que se tuvieron todas las muestras, se midió su concentración aproximada con la ayuda de una probeta y se diluyeron hasta conseguir una concentración de 0,5 mg/mL (aprox.). Con esta concentración, se prepararon las muestras para observar los autoensamblados por TEM (*Transmission Electron Microscopy*). Para ello se depositaron sobre una rejilla de cobre con película de carbono, se tiñeron y se secaron. Los resultados que se obtuvieron tras visualizar las diferentes muestras en el TEM fueron los siguientes:

Los autoensamblados de los copolímeros bloque dieron micelas esféricas, como podemos ver en la *Figura 3.9*. Las de igual proporción de ambos monómeros dieron los mejores resultados, ya que se obtuvieron micelas de tamaño homogéneo (en torno a los 40 nm de diámetro), mientras que para los agregados de proporción 25:75 las micelas presentan mayor variedad de tamaño (con diámetros entre 20 y 100 nm), y para los de la proporción 75:25, las micelas no se observan bien definidas (el tamaño promedio de las micelas es de 40 nm de diámetro).



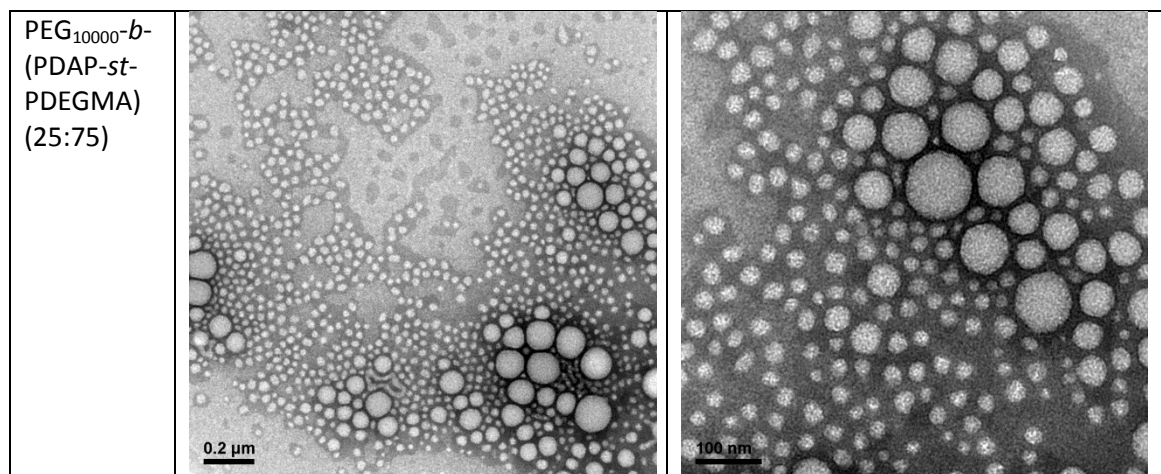


Fig.3.9. Autoensamblados formados con los polímeros $\text{PEG}_{10000}\text{-}b\text{-(PDAP-st-PDEGMA)}$.

En cuanto a los copolímeros supramoleculares, no se consiguieron formar micelas homogéneas y útiles, como se puede ver en la *Figura 3.10* muy probablemente debido al proceso de precipitación ya detectado durante la formación de estos ensamblados poliméricos.

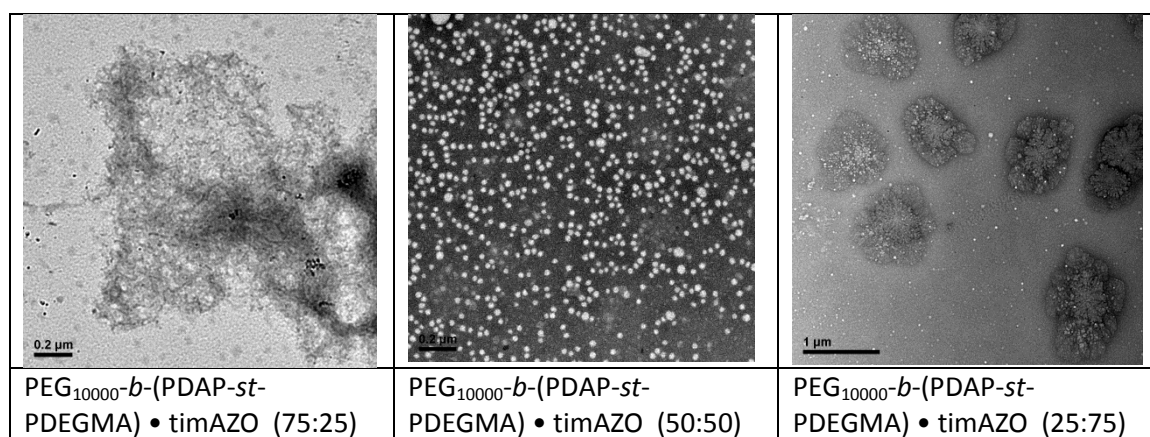


Fig. 3.10. Autoensamblados formados con los polímeros $\text{PEG}_{10000}\text{-}b\text{-(PDAP-st-PDEGMA)}$ • timAZO

Como en el caso anterior, las de igual proporción de ambos monómeros dieron los mejores resultados, ya que se observan micelas más o menos definidas con diámetros de unos 30 nm. No obstante, era de esperar un incremento de diámetro por lo que es previsible que realmente estemos observando las micelas de copolímero bloque sin la parte azoica y que sea esta la que ha precipitado en el proceso de formación de agregados. Para los otros dos tipos, aunque se puede ver alguna micela aislada, la mayor parte del compuesto agrega en tamaños macrométricos.

4. PARTE EXPERIMENTAL

Las técnicas e instrumentos empleados en este trabajo se detallan en el *Apartado F de Anexos*.

4.1. Síntesis y caracterización de los copolímeros de PDAP-*st*-PDEGMA, y de los copolímeros de PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA)

En un matraz Schlenk se introducen, en las cantidades mostradas en la *Tabla 4.1*, los monómeros DAP y DEGMA (del cual se ha eliminado el inhibidor radicalario pasándolo por una columna de alúmina básica), el agente de transferencia intramolecular (CTA en el caso de los copolímeros PDAP-*st*-PDEGMA y CTA-PEG₁₀₀₀₀, en el caso de los copolímeros PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA)), AIBN, y 2 mL de DMF seca (destilada previamente). Se realizan tres ciclos vacío-argón y se coloca el Schlenk en un baño precalentado a 80°C. La reacción se mantiene con agitación a esta temperatura durante 5 h. Después se introduce el Schlenk en nitrógeno líquido (quenching) y se precipita el crudo en 100 mL (aprox.) de dietil éter frío. El precipitado se aísla filtrando a vacío y se lava con dietil éter frío. Para purificar el compuesto, se disuelve el polímero en DCM y se vuelve a precipitar con dietil éter frío, con el fin de eliminar el monómero residual u otras impurezas que pudieran quedar. En el caso de que el producto no se pueda filtrar, se evapora el dietil éter, se disuelve el polímero en DCM y se hacen extracciones con agua para eliminar los restos de disolvente. A continuación se hacen varios lavados con hexano para eliminar los restos de monómero que puedan quedar.

Tabla 4.1. Cantidades utilizadas en la síntesis de los copolímeros.

Polímero	DAP (mg)	DEGMA (μL)	CTA o Macro-CTA (mg)	AIBN (mg)	Rto
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (75:25)	318,6	50	6,8	4,6	66%
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (50:50)	209,5	100	7,0	4,5	56%
PDAP- <i>st</i> -PDEGMA (25:75)	107,4	150	6,7	4,5	67%
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -PDAP	283,6	-----	150,2	3,1	49%
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (75:25)	316	50	224,8	4,8	55%
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (50:50)	209,8	100	225,8	4,6	65%
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (25:75)	108,3	150	225,0	4,8	73%

➤ Caracterización:

PDAP-*st*-PDEGMA (75:25)

IR(KBr), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3330 (NH), 1730, 1690, (C=O), 1580, 1540, 1440(Ar), 1290, 1170, 1140(C-O)
 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 9.18-8.18, 7.98-7.49, 4.51-3.90, 3.73-3.43, 3.38-3.27, 2.84-2.57, 2.48-2.26, 2.10-0.66.

PDAP-*st*-PDEGMA (50:50)

IR (KBr), $\nu(\text{cm}^{-1})$: 3340 (NH), 1735, 1700 (C=O), 1585, 1520, 1450(Ar), 1150 (C-O)
 $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm): 8.97-8.13, 7.96-7.46, 4.45-4.00, 3.78-3.45, 3.40-3.29, 2.88-2.62, 2.51-2.31, 2.05-0.69.

PDAP-*st*-PDEGMA (25:75)

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3340 (NH), 1730, 1700 (C=O), 1585, 1515, 1460 (Ar), 1150, 1110 (C-O)
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 9.09-8.09, 8.03-7.52, 4.47-3.98, 3.79-3.47, 3.42-3.31, 2.97-2.65, 2.58-2.32, 2.10-0.72.

PEG₁₀₀₀₀-*b*-PDAP

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3335 (NH), 1735, 1695 (C=O), 1590, 1525, 1450(Ar), 1150, 1100 (C-O)
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 9.20-8.25, 8.02-7.52, 4.63-3.88, 3.84-3.40, 3.38-3.37, 2.94-2.53, 2.45-2.26, 1.99-0.72.

PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (75:25)

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3325 (NH), 1730, 1700 (C=O), 1585, 1515, 1450 (Ar), 1150, 1110 (C-O)
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 9.28-8.07, 7.94-7.49, 4.56-3.88, 3.84-3.42, 3.38-3.37, 3.37-3.28, 2.97-2.59, 2.52-2.27, 2.09-0.66.

PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (50:50)

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3325 (NH), 1735, 1695 (C=O), 1585, 1515, 1450 (Ar), 1150, 1110 (C-O)
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 9.21-8.10, 7.97-7.53, 4.57-3.92, 3.86-3.42, 3.41-3.27, 2.85-2.61, 2.57-2.26, 2.08-0.70.

PEG₁₀₀₀₀-*b*-(PDAP-*st*-PDEGMA) (25:75)

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 3325 (NH), 1730, 1700 (C=O), 1585, 1515, 1450 (Ar), 1110 (C-O)
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm): 8.89-8.03, 7.98-7.48, 4.37-3.92, 3.89-3.36, 3.36-3.20, 2.86-2.61, 2.44-2.30, 2.08-0.61.

4.2. Preparación de los copolímeros supramoleculares

Las mezclas se preparan pesando en un vial con una balanza de precisión ($d=0,1\text{mg}$), la cantidad correspondiente de copolímero bloque y de timAZO. Se disuelven en la mínima cantidad de THF (calidad HPLC) y se filtran (filtros de teflón de 0,2 micras). Se mantienen en agitación mecánica para que se vaya evaporando poco a poco el disolvente (2-3 semanas). Una vez evaporado, se secan a vacío a temperatura ambiente.

Tabla 4.2. Cantidades utilizadas en la preparación de los copolímeros bloque supramoleculares.

Complejo supramolecular	Polímero	timAZO
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (75:25) + timAZO	30 mg de PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (75:25)	24,8 mg
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (50:50) + timAZO	30 mg de PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (50:50)	14,5 mg
PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (50:50) + timAZO	30 mg de PEG ₁₀₀₀₀ - <i>b</i> -(PDAP- <i>st</i> -PDEGMA) (25:75)	9,3 mg

4.3. Autoensamblados en agua

Los autoensamblados en agua se han preparado tanto con los tres copolímeros bloque, como con los tres copolímeros supramoleculares. Se disuelven 5 mg de muestra en 1 mL de THF (calidad HPLC) y se filtra (con filtro de teflón de 0,2 micras). Se trasvasa a una cubeta y se van añadiendo porciones de 10 μL de H_2O Milli-Q. El seguimiento de la formación de nanopartículas se hace mediante espectroscopía UV-vis a $\lambda=650\text{nm}$ registrando el valor de la absorbancia tras cada adición (una vez estabilizada la medida). Cuando se alcanza un valor aproximadamente constante se introduce en una membrana, cuyo tamaño de poro es de 1000Da, y se dializa con agua Milli-Q con el fin de eliminar el THF. Se cambia el agua de la diálisis cada 24 durante 4 días consecutivos. Tras la diálisis se pasa la disolución con los autoensamblados a una probeta para medir el volumen y poder así calcular la concentración aproximada.

Para el estudio por TEM, se diluye la disolución con agua hasta tener una concentración aproximada de 0,5 mg/mL. Una vez que se tiene la concentración adecuada, se deposita una gota de la misma sobre una rejilla de cobre con película de carbono. Se esperan 30 segundos y se elimina agua y parte de muestra no depositada por capilaridad con un papel de filtro. Seguidamente se añade una gota de acetato de uranilo (tinte), se esperan otros 30 segundos y se retira por capilaridad. Las muestras preparadas se dejaron secar 24 horas a vacío antes de medir.

5. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de este trabajo son:

-La polimerización RAFT es un método adecuado para obtener copolímeros estadísticos y copolímeros bloque anfífilos bien definidos tanto en el control de la masa molecular como en la polidispersidad. Los copolímeros estadísticos están compuestos por unidades repetitivas derivadas de metacrilato de 3,6-dioxiheptanoilo, y un metacrilato que contiene unidades de 2,6-diacilaminopiridina (DAP). Ambas unidades repetitivas forman el bloque hidrófobo de los copolímeros bloque, cuyo bloque hidrófilo está formado por PEG.

- Los copolímeros estadísticos y los copolímeros bloque fueron caracterizados por ^1H -RMN e IR, y también se les realizaron análisis de sus propiedades térmicas (TGA y DSC). Todos los materiales son estables térmicamente hasta temperatura de 200°C . Se observó que los copolímeros estadísticos eran amorfos y su T_g disminuye al aumentar el contenido de la unidad derivada de DEGMA. En los copolímeros bloque se observa una única T_g , que no corresponde a ninguno de los bloques, lo que indica miscibilidad entre ambos, que está favorecida por la unidad derivada de 2,6-diacilaminopiridina. Al aumentar el contenido de DEGMA en el bloque hidrófobo, se observa que por encima de T_g se produce una cristalización y posterior fusión que se asocia al bloque de PEG.

-Los copolímeros supramoleculares se estudiaron por IR y ^1H -RMN, y se demostró la presencia de enlaces de hidrógeno entre las unidades de 2,6-diacilaminopiridina y la timina presente en el azocompuesto (timAZO). En estos copolímeros también se estudiaron las propiedades térmicas por TGA y DSC y se vio que eran similares a las de los copolímeros bloque precursores.

-Se empleó el método de disolución en THF y adición progresiva de agua para formar nanopartículas poliméricas en agua. Mediante este método se obtuvieron micelas esféricas con diámetros comprendidos entre 20-100 nm, a partir de los copolímeros bloque. En el caso de los copolímeros supramoleculares, no se consiguieron formar micelas homogéneas y útiles probablemente debido al proceso de precipitación detectado durante la formación de estos ensamblados poliméricos y que afecta preferentemente a las unidades de azobenceno.

Como conclusión final se puede afirmar que la polimerización controlada RAFT es útil para el diseño de macromoléculas anfífilas y que la vía supramolecular por enlaces de hidrógeno es adecuada para la formación de copolímeros bloque funcionales (en este caso con unidades fotosensibles). Se han conseguido preparar fácilmente micelas esféricas a partir de copolímeros bloque, si bien es necesario seguir estudiando nuevos procedimientos para los copolímeros supramoleculares.